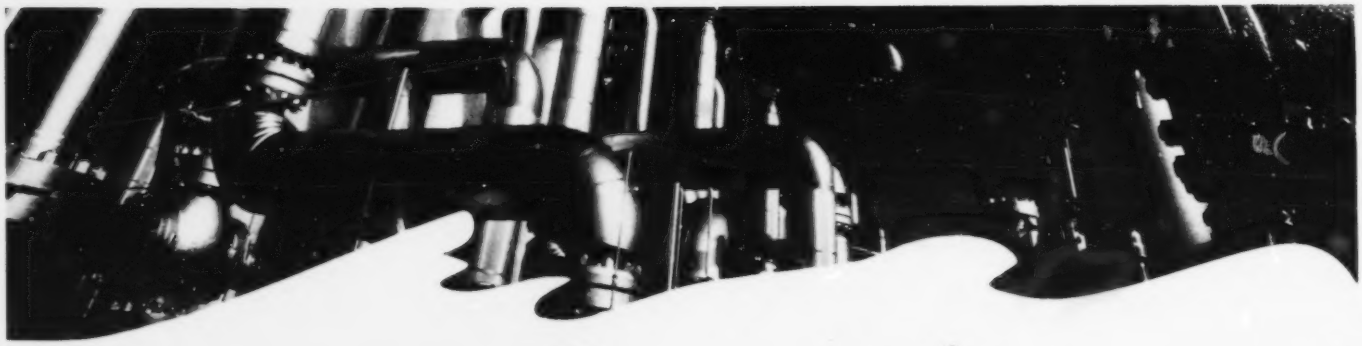


TECHNOLOGIES *Saint-Laurent*

RÉSUMÉ

Étant donné les limites des méthodologies pour évaluer le potentiel et les performances des biotechnologies environnementales, l'Institut de recherche en biotechnologie (IRB) a validé en conditions réelles un protocole pour évaluer la biotraitabilité d'un sol contaminé par des hydrocarbures légers. Ce protocole permet de suivre les performances du biotraitement du point de vue chimique, microbiologique, biochimique et toxicologique. Une caractérisation chimique du sol, l'utilisation de sondes d'ADN, des mesures de l'activité respiratoire et celles de la minéralisation de polluants témoins constituent l'essentiel de cette approche à variables multiples. Le suivi des processus mis en jeu lors du biotraitement, en cellules étanches, d'un sol contaminé est ainsi rendu possible.

SOLS CONTAMINÉS

PROTOCOLE D'ÉVALUATION DE LA BIOTRAITABILITÉ D'UN SOL ET DE SUIVI DE LA PERFORMANCE D'UN BIOPROCÉDÉ

POINTS SAILLANTS

- **Protocole global**
  - Méthodologie pour suivre l'évolution des caractéristiques chimiques, microbiologiques, biochimiques et écotoxicologiques d'un bioprocédé.
- **Sondes d'ADN**
  - Outil innovateur pour dénombrer les bactéries génétiquement aptes à dégrader certains hydrocarbures aliphatiques et aromatiques.
- **Essais de minéralisation**
  - Outil pour quantifier la biodégradation de polluants témoins marqués au carbone-14 et ainsi déterminer l'activité spécifique de la microflore du sol sur ces polluants cibles.
- **Respiromètre**
  - Outil permettant de mesurer l'activité respiratoire globale de la microflore d'un échantillon de sol.

PLAN D'ACTION SAINT-LAURENT

Environnement Canada
Protection
Région du Québec

Environment Canada
Protection
Québec Region

Conseil national de recherches Canada
Institut de recherche en biotechnologie

National Research Council Canada
Biotechnology Research Institute

OBJECTIFS DU PROJET

Afin de faciliter la prise de décision dans la gestion de sols contaminés par des hydrocarbures, l'Institut de recherche en biotechnologie (IRB) a développé un protocole d'évaluation de la biotraitabilité et de suivi d'un biotraitement. Ce protocole propose une méthodologie pour l'évaluation du potentiel de biodégradation des hydrocarbures légers présents dans les sols contaminés.

Cette méthodologie, en plus d'établir une caractérisation chimique du sol, permet de suivre et de quantifier la performance du biotraitement du point de vue microbiologique, biochimique et écotoxicologique.

Après avoir développé en laboratoire les divers outils d'analyse, l'IRB a validé l'application de ce protocole lors d'un projet de démonstration à l'échelle réelle.

Ce projet de démonstration a été réalisé en conditions hivernales et utilisait un biotraitement en cellules étanches pour traiter des sols argileux contaminés par des hydrocarbures légers. Le projet visait notamment à démontrer que :

- **le nouveau protocole de l'IRB permet de suivre adéquatement les performances d'un biotraitement en cellules étanches;**
- **ce même biotraitement permet d'abaisser la concentration en huiles et graisses à moins de 1000 mg/kg.**

PROBLÉMATIQUE

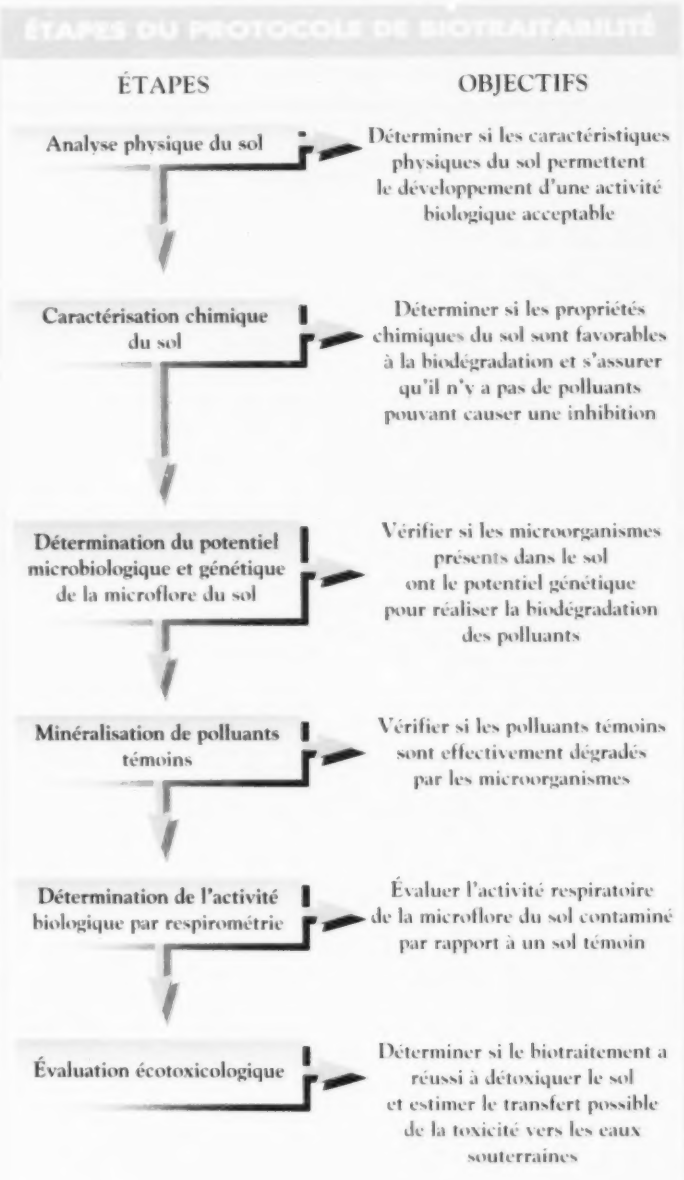
Malgré la popularité des bioprocédés de restauration de sites contaminés, les paramètres influençant la biodégradation des hydrocarbures pétroliers sont mal connus et ainsi difficilement contrôlables, en raison surtout :

- de l'hétérogénéité des sites, des types de sols et des polluants à traiter;
- du manque de connaissance sur les facteurs contrôlant l'activité des microorganismes dans les sols;
- du peu de contrôle de qualité appliqué aux analyses chimiques, biologiques et écotoxicologiques lors d'essais pilotes et à grande échelle;
- de l'absence de méthodes standard permettant d'évaluer la biotraitabilité d'un sol et le temps nécessaire pour compléter la biodégradation des contaminants;
- de l'absence d'un protocole pour suivre adéquatement les performances d'un système de traitement biologique des sols.

TECHNOLOGIE

Tel qu'illustré à la figure ci-dessous, la méthodologie proposée par l'IRB se résume en six étapes.

À chaque étape, plusieurs paramètres physico-chimiques, biochimiques microbiologiques et écotoxicologiques font l'objet d'analyse, comme le montre le tableau de la page ci-contre.



PROBLÉMATIQUE

Malgré la popularité des bioprocédés de restauration de sites contaminés, les paramètres influençant la biodégradation des hydrocarbures pétroliers sont mal connus et ainsi difficilement contrôlables, en raison surtout :

- de l'hétérogénéité des sites, des types de sols et des polluants à traiter;
- du manque de connaissance sur les facteurs contrôlant l'activité des microorganismes dans les sols;
- du peu de contrôle de qualité appliqué aux analyses chimiques, biologiques et écotoxicologiques lors d'essais pilotes et à grande échelle;
- de l'absence de méthodes standard permettant d'évaluer la biotraitabilité d'un sol et le temps nécessaire pour compléter la biodégradation des contaminants;
- de l'absence d'un protocole pour suivre adéquatement les performances d'un système de traitement biologique des sols.

TECHNOLOGIE

Tel qu'illustré à la figure ci-dessous, la méthodologie proposée par l'IRB se résume en six étapes.

À chaque étape, plusieurs paramètres physico-chimiques, biochimiques microbiologiques et écotoxicologiques font l'objet d'analyse, comme le montre le tableau de la page ci-contre.

ÉTAPES DU PROTOCOLE DE BIOTRAITABILITÉ

ÉTAPES	OBJECTIFS
Analyse physique du sol	Déterminer si les caractéristiques physiques du sol permettent le développement d'une activité biologique acceptable
Caractérisation chimique du sol	Déterminer si les propriétés chimiques du sol sont favorables à la biodégradation et s'assurer qu'il n'y a pas de polluants pouvant causer une inhibition
Détermination du potentiel microbiologique et génétique de la microflore du sol	Vérifier si les microorganismes présents dans le sol ont le potentiel génétique pour réaliser la biodégradation des polluants
Minéralisation de polluants témoins	Vérifier si les polluants témoins sont effectivement dégradés par les microorganismes
Détermination de l'activité biologique par respirométrie	Évaluer l'activité respiratoire de la microflore du sol contaminé par rapport à un sol témoin
Évaluation écotoxicologique	Déterminer si le biotraitement a réussi à détoxiquer le sol et estimer le transfert possible de la toxicité vers les eaux souterraines

RÉSULTATS

104-01542/

L'application du protocole pour le suivi d'un bioprocédé de traitement en cellules étanches a permis de déterminer la biotraitabilité des hydrocarbures légers, de suivre l'évolution des caractéristiques chimiques, biochimiques, microbiologiques et, dans une moindre mesure, les caractéristiques écotoxicologiques du bioprocédé. En effet, l'étude a démontré que les bioessais actuels doivent être améliorés pour être utilisés dans la mesure de la toxicité des sols contaminés et/ou traités.

Entre autres, les résultats obtenus des tests de respirométrie indiquaient d'importantes fluctuations de l'activité biologique aux divers points d'échantillonnage démontrant ainsi une hétérogénéité du sol dans les différentes cellules de biotraitement.

L'utilisation des sondes d'ADN a permis de démontrer que, dans ce cas particulier, les bactéries hétérotrophes responsables de la dégradation des hydrocarbures composaient moins de 1 % de la microflore du sol et qu'elles semblaient répondre de façon plus prononcée aux variations de température que le reste de la microflore. Cette sensibilité n'a toutefois pas empêché la biodégradation de s'effectuer durant la période hivernale.

Le protocole a de plus démontré que l'utilisation d'un bilan de matière des composés polaires et non-polaires jumelé à la quantification de polluants cibles par CPG/SM a permis de suivre plus précisément la concentration d'huiles et de graisses autour de la valeur critique de 1000 mg/kg.

PARAMÈTRES MESURÉS

Physico-chimiques

- Granulométrie
- Huiles et graisses minérales
- Caractéristiques des hydrocarbures par CPG/SM
- Monitorage des composés cibles par CPG/SM
- Ions NH_4^+, NO_3^- et PO_4^{-3}
- Rapport C/N
- pH
- Pourcentage d'humidité

Biochimiques

- Minéralisation de polluants marqués au carbone-14
- Activité respiratoire des microorganismes par des respiromètres électrolytiques

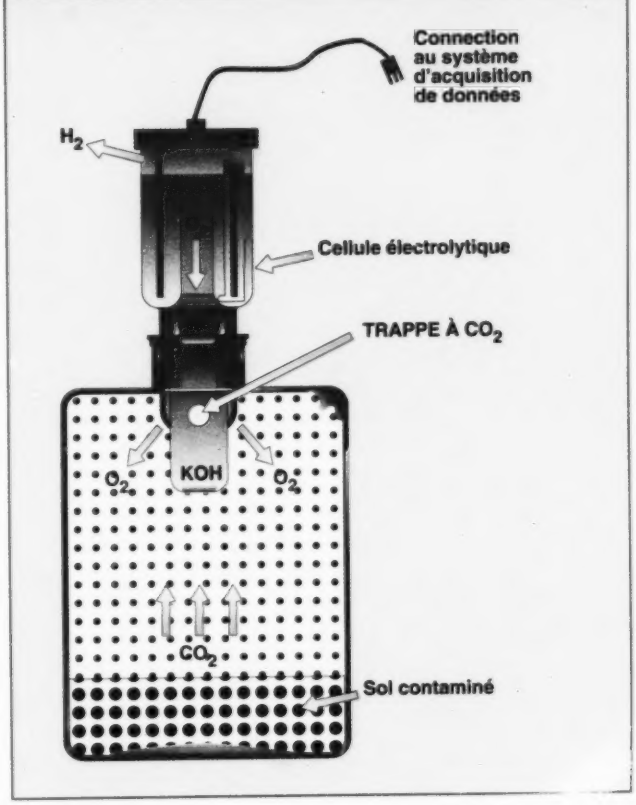
Microbiologiques

- Dénombrement des microorganismes mésophiles (croissance optimale entre 20 et 45 °C) et psychrophiles (croissance optimale aux environs de 15 °C)
- Dénombrement à l'aide de sondes biomoléculaires, des microorganismes capables de dégrader les hydrocarbures

Écotoxicologiques

- Germination des semences
- Mortalité des vers de terre
- Microtox
- Élongation des racines
- Inhibition de la croissance des algues phytoplanctoniques
- Croisssance, *Selastrum capricornutum*
- Mortalité des cladocères

SHÉMA DU RÉACTEUR RESPIROMÉTRIQUE



POTENTIEL ET LIMITES

Potentiel

L'utilisation innovatrice d'outils bio-moléculaires dans ce protocole tels que les sondes d'ADN a permis de démontrer leur grand potentiel d'application pour déterminer la biotraitabilité de sites contaminés et d'assurer le suivi du traitement. Ces outils sont très polyvalents et peuvent être appliqués à divers polluants ainsi qu'à diverses matrices telles que le sol, l'eau et l'air.

Ce protocole pourrait éventuellement servir à l'élaboration de tests standardisés recommandés dans des procédures et/ou règlements applicables aux projets de biotraitement de sols contaminés par des hydrocarbures.

Limites

Actuellement, peu de laboratoires peuvent exécuter toutes les analyses requises par le protocole proposé par l'IRB.

Cette approche a été appliquée pour l'instant aux bioprocédés de traitement hors site. Cependant l'application du protocole à des biotraitements *in situ* est en cours.

INFORMATIONS

Cette fiche a été rédigée à partir de projets de développement et de démonstration technologique auxquels l'Institut de recherche en biotechnologie du Conseil national de recherches du Canada a participé. Les projets de recherche ont bénéficié d'une aide financière d'Environnement Canada. En relation avec ces projets, les documents suivants sont disponibles :

Rapport intitulé : *"Démonstration d'un nouveau protocole de biotraitabilité pour le suivi d'un traitement biologique des sols contaminés"* contenant l'information détaillée de l'application du protocole dans le cadre du projet de démonstration est disponible à **l'Institut de recherche en biotechnologie.**

Fiche technique publiée dans la série "Technologies Saint-Laurent" et intitulée : *"Biodégradation, en conditions hivernales, de sols argileux contaminés par des hydrocarbures"* présente un résumé du projet de démonstration et est disponible à **Environnement Canada.**

Pour plus d'information, s'adresser à :

Gérald Girouard, ing.
Jean-René Michaud, ing., M.Sc.A
Section du Développement technologique
Direction de la Protection
Environnement Canada
Tél. : (514) 283-6536
(514) 283-9207

Charles Greer, Ph.D.
Réjean Samson, Ph.D.
Secteur biotechnologie environnementale
Institut de recherche en biotechnologie
Conseil national de recherches du Canada
Tél. : (514) 496-6100

Les fiches d'information Technologies Saint-Laurent sont destinées aux entreprises, industries, organismes et personnes qui s'intéressent aux nouvelles technologies environnementales. Elles sont produites par la division Développement technologique, Environnement Canada, dans le cadre du Plan d'action Saint-Laurent. Elles servent à diffuser les résultats obtenus lors des projets de développement et de démonstration technologiques réalisés dans les quatre secteurs suivants : eaux usées industrielles, sols contaminés, déchets dangereux et sédiments contaminés.

Vous pouvez obtenir gratuitement les fiches en vous adressant à :
Environnement Canada
685, Cathcart, 8e étage
Montréal (Québec) H3B 1M6
Tél. : (514) 283-9274

Production :
Claire Marier, M. Sc., M.B.A.
Rédaction :
Jean-René Michaud, ing. M.Sc.A, Réjean Samson, Ph.D.
Mise en page :
Dianne Ouellet
Révision du texte:
Monique Simond
Réalisation graphique :
Marcel Champagne Communications Le Sceau inc.
Impression :
Boulanger inc.

Publié avec l'autorisation du ministre de l'Environnement
© Ministre des Approvisionnements et Services Canada, 1993

Mars 1994

Also available under the title :
A method to assess soil biotreatability and to monitor bioprocess effectiveness.

Canada

POTENTIEL ET LIMITES

Potentiel

L'utilisation innovatrice d'outils bio-moléculaires dans ce protocole tels que les sondes d'ADN a permis de démontrer leur grand potentiel d'application pour déterminer la biotraitabilité de sites contaminés et d'assurer le suivi du traitement. Ces outils sont très polyvalents et peuvent être appliqués à divers polluants ainsi qu'à diverses matrices telles que le sol, l'eau et l'air.

Ce protocole pourrait éventuellement servir à l'élaboration de tests standardisés recommandés dans des procédures et/ou règlements applicables aux projets de biotraitement de sols contaminés par des hydrocarbures.

Limites

Actuellement, peu de laboratoires peuvent exécuter toutes les analyses requises par le protocole proposé par l'IRB.

Cette approche a été appliquée pour l'instant aux bioprocédés de traitement hors site. Cependant l'application du protocole à des biotraitements *in situ* est en cours.

INFORMATIONS

Cette fiche a été rédigée à partir de projets de développement et de démonstration technologique auxquels l'Institut de recherche en biotechnologie du Conseil national de recherches du Canada a participé. Les projets de recherche ont bénéficié d'une aide financière d'Environnement Canada. En relation avec ces projets, les documents suivants sont disponibles :

Rapport intitulé : *"Démonstration d'un nouveau protocole de biotraitabilité pour le suivi d'un traitement biologique des sols contaminés"* contenant l'information détaillée de l'application du protocole dans le cadre du projet de démonstration est disponible à **l'Institut de recherche en biotechnologie.**

Fiche technique publiée dans la série "Technologies Saint-Laurent" et intitulée : *"Biodégradation, en conditions hivernales, de sols argileux contaminés par des hydrocarbures"* présente un résumé du projet de démonstration et est disponible à **Environnement Canada.**

Pour plus d'information, s'adresser à :

Gérald Girouard, ing.
Jean-René Michaud, ing., M.Sc.A
Section du Développement technologique
Direction de la Protection
Environnement Canada
Tél. : (514) 283-6536
(514) 283-9207

Charles Greer, Ph.D.
Réjean Samson, Ph.D.
Secteur biotechnologie environnementale
Institut de recherche en biotechnologie
Conseil national de recherches du Canada
Tél. : (514) 496-6100